

N° D'ORDRE

73

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(Chimie générale)

PAR

Paul EHRENSTEIN

Ingénieur-Chimiste

1^{re} THÈSE : SUR LA DESMOTROPIE DES ACIDES α - CÉTONIQUES

2^e THÈSE : PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le Novembre 1932 devant la Commission d'Examen

MM. MEUNIER, *Président.*

FROMAGEOT, *Examineur.*

LYON

BOSC Frères, M. et L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

1932

Sur la DESMOTROPIE des ACIDES α - CÉTONIQUES



Digitized by the Internet Archive
in 2026

N° D'ORDRE

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(Chimie générale)

PAR

Paul EHRENSTEIN

Ingénieur-Chimiste

1^{re} THÈSE : SUR LA DESMOTROPIE DES ACIDES α - CÉTONIQUES

2^e THÈSE : PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le Novembre 1932 devant la Commission d'Examen

MM. MEUNIER, *Président.*

FROMAGEOT, *Examinateur.*

LYON

BOSC Frères, M. et L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

1932

UNIVERSITÉ DE LYON - FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. GRIGNARD, O. ✱, ☿ I., ☿ P. N., Membre de l'Institut.

Assesseur

M. VANEY, ✱, ☿ I., ☿.

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT, O. ✱, ☿ I.
GÉRARD, O. ✱, ☿ I., ☿ C.
RIGOLLOT, ✱, ☿ I.
OFFRET, ✱, ☿ I., ☿.
COUTURIER, ✱, ☿ I., ☿.

Professeurs titulaires

MM. GRIGNARD, O. ✱, ☿ I., ☿ P. N., Membre de l'Institut, *Chimie générale.*
DULAC, ✱, ☿ I., *Calcul différentiel et intégral.*
MASCART, ✱, ☿ I., ☿, *Astronomie physique.*
SIRE, ☿ I., ☿, *Mécanique rationnelle et appliquée.*
MEUNIER, O. ✱, ☿ I., *Chimie industrielle.*
BEAUVIER, ✱, ☿ I., ☿ C., *Botanique.*
THOVERT, ✱, ☿ I., ☿, *Physique.*
CARDOT, ☿, *Physiologie générale et comparée.*
VANEY, ✱, ☿ I., ☿, *Zoologie.*
LONGCHAMON, ✱, ☿, ☿, *Minéralogie théorique et appliquée.*
LOCQUIN, ✱, ☿ I., *Chimie générale.*
ROMAN, ☿ I., *Géologie.*
DÉJARDIN, ☿, *Physique.*
DOUIN, ✱, ☿, ☿, *Botanique.*

Professeurs titulaires (sans chaire)

MM. LEMARCHANDS, ☿ I., *Chimie industrielle.*
EYRAUD, ☿, *Mathématiques.*
SOLLAUD, ☿ I., *Zoologie.*

Maîtres de conférences et Chargés de cours complémentaires

MM. AUMÉRAS, *Chimie physique.*
FROMAGEOT, *Chimie biologique.*
BONNET, ☿ I., *Zoologie appliquée et Zootechnie.*
MAYET, ✱, ☿ I., ☿, *Anthropologie.*
PELOSSE, ☿ I., *Sériciculture.*
DONCIEUX, ☿ I., *P. C. N. supérieur.*
SEYEWETZ, ✱, ☿ I., *Matières colorantes artificielles.*
M^{lle} BACHRACH, ☿ I., *Physiologie.*
MM. DARESTE DE LA CHAVANNE, ☿ I., *Géologie.*
DUFAY, *Astrophysique.*
VIRET, *Etude des Roches.*
RANSON, *Géométrie supérieure.*

Secrétaire

M^{me} NÉTIEN, ☿ I.



A MONSIEUR MARCEL BÔ

Témoignage de haute considération.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FROMAGEOT

Hommage de profonde reconnaissance
et expression de sincère
gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MEUNIER

Hommage de ma gratitude et de ma
reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR KARL FREUDENBERG

Hommage de respectueuse gratitude.

Introduction

Il est admis à l'heure actuelle que, dans un certain nombre de cas, les ferments n'agissent vis-à-vis des corps qu'ils transforment, que sur une structure moléculaire spéciale de ces corps ; ils manifestent ainsi une sorte de spécificité de second degré dont l'importance est considérable ; en effet si pour une raison quelconque, la ou les substances ordinairement attaquables ne peuvent présenter cette structure particulière, qui correspond à une forme spécifiquement labile, la réaction se trouve bloquée.

La fermentation alcoolique est particulièrement riche en exemples de ce genre ; elle porte en effet sur des corps possédant la fonction CO, fonction qui est éminemment transformable ; ce sont tout d'abord les hexoses fermentescibles eux-mêmes qui ne peuvent subir le dédoublement en méthylglyoxal que s'ils sont mués en une forme particulière dont la structure n'est d'ailleurs pas fixée avec certitude. C'est ensuite le méthylglyoxal dont la formule brute peut répondre à 8 constitutions différentes ⁽¹⁾ et qui, selon la forme sous laquelle il existe, subit soit une dismutation interne pour donner naissance à l'acide lactique, soit une dismutation où intervient

(1) C. NEUBERG. *Biochem. Zs.* **51**, 484; 1913.

l'aldéhyde acétique pour donner naissance à l'acide pyruvique. L'expérience montre en effet que le méthylglyoxal, prenant naissance dans un milieu de fermentation, forme des hydrates qui, déshydrogénés, donnent précisément de l'acide pyruvique, alors que du méthylglyoxal, préparé chimiquement, mis en solution aqueuse, existant par conséquent sous forme d'hydrate et introduit artificiellement dans le milieu de fermentation, est bloqué sous forme d'acide lactique.

Comme il s'agit dans les deux cas d'un même milieu de fermentation, c'est-à-dire d'une suspension de levure et que les conditions sont les mêmes dans les deux cas, l'on doit admettre que ces différences de destin du méthylglyoxal selon son origine, sont dues aux formes moléculaires sous lesquelles il se présente.

L'acide pyruvique enfin peut, lui aussi, exister sous des formes multiples et l'on peut se demander si ce n'est pas seulement l'une d'entre elles que la carboxylase soit capable d'attaquer.

D'une façon générale il semble intéressant de chercher à déterminer la structure exacte des formes attaquables par les ferments. C'est là un chapitre de l'étude de la spécificité des ferments qui n'a été abordé que dans peu de cas et auquel il m'est apparu utile d'apporter une contribution. Le cas de l'acide pyruvique en particulier et des acides α -cétoniques en général m'a semblé être le plus immédiatement accessible.

Le présent travail porte donc sur l'étude de la constitution de quelques acides α -cétoniques.

Au point de vue biologique une série de travaux, dus à Neuberg et à ses collaborateurs ⁽²⁾, ont montré le rôle que

(2) Voir la littérature dans I. St. NEUBERG. *Biochem. Zs.* **219**, 165; 1930.

doit jouer la structure des acides α -cétoniques vis-à-vis de leur aptitude à subir l'action de la carboxylase. On sait que cette action consiste en la décarboxylation des acides en question, avec production de l'aldéhyde correspondant. Il apparaît qu'en dehors de l'acide pyruvique une série d'autres acides α -cétoniques sont susceptibles d'être décarboxylés ; mais il est remarquable que parmi ces nombreux acides α -cétoniques, seuls résistent à l'action de la carboxylase, ceux qui ne possèdent pas d'hydrogène mobile immédiatement voisin du groupe cétonique et qui ne peuvent pas, par conséquent, donner lieu, théoriquement, à la production d'une forme énolique, par exemple. Le cas le plus typique est celui qui ressort de la comparaison des acides méthyléthylpyruvique d'une part, et triméthylpyruvique d'autre part ; ces deux acides isomères l'un de l'autre sont aussi voisins qu'on puisse l'imaginer ; l'expérience montre que seul le dérivé méthyléthyl subit l'action de la carboxylase ; le dérivé triméthyl est parfaitement résistant. L'on est ainsi amené tout naturellement à penser que l'aptitude d'un acide α -cétonique à subir l'action de la carboxylase est liée à l'existence d'une forme moléculaire spéciale, à la constitution de laquelle participe l'hydrogène mobile auquel il a été fait allusion précédemment.

C'est ainsi que Neuberg a émis l'hypothèse que la carboxylase attaquait spécifiquement la forme énolique des acides α -cétoniques.

La valeur de cette hypothèse se trouvait renforcée par les résultats obtenus au point de vue chimique par V. Henri et Cl. Fromageot (3) dans leur étude spectrographique de l'acide pyruvique. Ces auteurs ont trouvé en effet que, dans des conditions correspondant aux conditions biologiques,

(3) V. Henri et Cl. FROMAGEOT. *Bull. Soc. Chim.*, **37**, 485; 1925.

c'est-à-dire en milieu dilué et légèrement acide ou voisin de la neutralité, l'acide pyruvique existe en partie sous forme de molécules à double liaison auxquelles ils ont attribué la constitution énolique.

Plus tard, en étudiant l'oxydation de l'acide pyruvique par les chlorates en présence de tétraoxyde d'osmium, I. Neuberger (5) a mis en évidence la formation d'acide oxalique, arrivant ainsi à la même conclusion, à savoir l'existence d'une forme énolique de l'acide en question.

Mais il convient de remarquer que l'acide pyruvique, même dans les conditions où la teneur en forme en double liaison est maxima, ne donne, avec le chlorure ferrique, aucune espèce de réaction indiquant la présence d'une forme énolique.

Il y a là une sorte de contradiction, du moins apparente, que les auteurs dont il vient d'être parlé ont cru expliquer en admettant que la concentration en forme énolique est trop faible pour donner lieu à sa réaction classique avec FeCl_3 . On verra plus loin que cette manière de voir paraît erronée.

En ce qui concerne les acides α -cétoniques supérieurs, homologues de l'acide pyruvique, et attaquables par la carboxylase, l'on n'avait jusqu'ici que peu de renseignements sur l'existence réelle de leurs formes tautomères éventuelles. Seul un travail récent de Cl. Fromageot et S. Perraud (6) avait montré, dans le cas de l'acide diméthylpyruvique, l'existence certaine d'une forme énolique donnant avec FeCl_3 une réaction colorée et titrable par le brome, en même temps que l'existence de modifications spectrales analogues à celles observées précédemment pour l'acide pyruvique. Mais, chose

(5) *Loc. cit.*

(6) Cl. FROMAGEOT et S. PERRAUD. *Biochem. Zs.* **223**, 213; 1930.

curieuse, les expériences semblaient révéler une indépendance complète des variations de la teneur en forme énolique titrable par le brôme en présence de FeCl_3 , et des modifications spectrales observées.

Les auteurs avaient été ainsi amenés à envisager pour l'acide diméthylpyruvique à côté de la forme cétonique et de la forme énolique classique une troisième forme de constitution d'ailleurs indéterminée.

Des recherches effectuées dans la suite dans ce laboratoire ont montré que l'acide diméthylpyruvique, employé par Fromageot et Perraud au cours de leur travail, n'était pas absolument pur au point de vue optique. Ces auteurs signalent en effet que le produit obtenu jaunit par alcalinisation du milieu, ce qui s'est révélé être dû, non pas à une modification de l'acide lui-même, comme ils l'avaient supposé alors, mais à l'existence d'une impureté dont il est d'ailleurs impossible de se débarrasser par des distillations et cristallisations même répétées.

Sur les conseils de Cl. Fromageot, j'ai alors repris le travail précédent avec de l'acide diméthylpyruvique optiquement pur, pour en confirmer si possible les résultats et, le cas échéant, les étendre ; en même temps j'ai exécuté une série de recherches sur d'autres acides α -cétoniques, notamment sur l'acide méthyléthylpyruvique et à titre de comparaison sur l'acide triméthylpyruvique ; ce sont les résultats des expériences que j'ai poursuivies que je donne ici.

Il est d'ailleurs à remarquer que si le problème, qui nous occupe ici, a son origine dans l'étude d'une réaction biochimique, il n'en est pas moins intéressant au point de vue chimique pur. En effet, si l'on connaît aujourd'hui un assez grand nombre d'exemples d'apparition de formes tautomères, l'on en est encore à rechercher quels sont les facteurs

qui influencent ou qui provoquent les phénomènes de tautométrie ; et l'on peut espérer qu'en accumulant les exemples et surtout en les étudiant avec quelques détails on puisse arriver un jour à déterminer les conditions générales dont dépendent les proportions des formes tautomères d'un même corps, à l'équilibre.

Ce travail a été exécuté au laboratoire de chimie biologique de la Faculté des Sciences de Lyon ; il a été fait en collaboration avec M. Pelletier, auquel je dois la synthèse d'une grande quantité des acides α -cétoniques utilisés, et auquel je suis heureux d'adresser ici tous les remerciements pour l'aide qu'il n'a jamais cessé de me prodiguer.

Mais surtout je tiens à exprimer à M. Cl. Fromageot, Directeur du Laboratoire, toute ma gratitude pour tout ce que lui doit la réalisation de ce travail.

Techniques générales

Au cours du présent travail j'ai étudié, d'une part, les spectres d'absorption ultra-violets des acides diméthylpyruvique, méthyléthylpyruvique, triméthylpyruvique dans différentes conditions, faisant varier la concentration, l'acidité des solutions, la nature du solvant. D'autre part, j'ai déterminé quantitativement les proportions en forme énolique pour chacun des deux premiers acides en solution aqueuse en faisant varier également un certain nombre de conditions comme la concentration, l'acidité, la nature du solvant et la température.

J'ai constaté que les équilibres éventuels s'établissent dans les différentes solutions, en quelques minutes ; néanmoins, les solutions étudiées ont toujours été préparées 24 heures avant d'être utilisées pour les mesures.

ETUDE DES SPECTRES D'ABSORPTION

Je rappelle que le coefficient d'absorption moléculaire d'une solution quelconque pour une longueur d'onde déterminée est donnée par l'expression :

$$\epsilon = \frac{1}{c.d} \log \frac{I_0}{I}$$

où

c est la concentration en molécules par litre ;

d l'épaisseur de la cuve en centimètres ;

*I*₀ l'intensité du rayon lumineux ayant traversé le solvant seul ;

I l'intensité du rayon lumineux après son passage à travers la solution.

Je me suis servi ici d'un grand spectrographe Leiss permettant d'effectuer des mesures jusqu'à $\lambda = 2.000 \text{ \AA}$. Les techniques suivies sont les techniques maintes fois décrites par V. Henri, où l'on photographie la solution étudiée en faisant varier et les temps de pose par rapport au solvant et les épaisseurs. Les épaisseurs de la cuve d'absorption sont données par un appareil micrométrique précis à 0,001 cm. permettant d'obtenir les épaisseurs faibles nécessaires pour les mesures concernant les solutions concentrées.

La source lumineuse est tout simplement constituée par une lampe à vapeur de mercure, ponctuelle à forte intensité lumineuse, de la Maison Gallois. Cette lampe donne un spectre continu très suffisant, parsemé de raies qui rendent le repérage commode.

Je signale que la courbure assez prononcée du châssis du spectrographe nécessite l'emploi de plaques extra-minces. Devant la difficulté où je me suis trouvé de me procurer des plaques, j'ai utilisé des films semi-rigides Kodak dits « Portrait-films », qui se montrent très pratiques.

Toutes les mesures ont été effectuées à la température de 18 à 20° C.

Nature des solvants employés. — J'ai utilisé les solvants suivants : eau, alcool éthylique, éther, dioxane. J'ai soigneusement purifié chacun de ces solvants et vérifié leur transparence optique avant de les employer. Pour l'alcool et l'éther j'ai suivi les techniques de purification indiquées par A. Cas-

tille et V. Henri (7) ; pour obtenir du dioxane transparent à l'ultra-violet j'ai d'abord distillé du dioxane commercial ; retenant la fraction passant entre 99°5 et 101°, je l'ai traitée ensuite par du sodium en fils ; après distillation, j'y ai introduit à nouveau du sodium en fils. Ce traitement provoque la précipitation de la plupart des impuretés. Après une nouvelle distillation sur sodium j'ai obtenu un produit dont l'absorption est pratiquement nulle jusqu'à 2.400 Å. sous 3 centimètres d'épaisseur.

TITRAGE DES FORMES ÉNOLIQUES

Les recherches faites précédemment avaient montré que les proportions des formes énoliques présentes, même dans les conditions les meilleures, sont assez faibles, de l'ordre de quelques unités pour 1.000 ; aussi le titrage de ces formes énoliques est-il, dans le cas actuel, quelque peu délicat. Nous avons opéré suivant la technique classique de Kurt Meyer, par le brôme en présence de chlorure ferrique comme indicateur, et avec les précautions habituelles : exécution rapide au voisinage de 0°. Le dosage était effectué à l'aide de microburettes sur des quantités de liquide de quelques centimètres cubes seulement.

Il convient de remarquer ici que lorsque l'on introduit du brôme libre dans une solution de l'un des acides α -cétoniques en question, l'expérience montre que le brôme ne disparaît pas seulement par suite de sa fixation sur une double liaison éventuelle, mais aussi par suite de l'oxydation de la molécule organique. Il est donc impossible de titrer une double liaison par le brôme sans employer un réactif caractéristique de cette double liaison. L'utilisation que j'ai faite ici du chlorure ferrique est donc indispensable.

(7) A. CASTILLE et V. HENRI. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **6**, 299; 1924.

Résultats expérimentaux

I. — ETUDE DE L'ACIDE DIMETHYLPYRUVIQUE

Préparation. — L'acide diméthylpyruvique dont je me suis servi a été préparé par la méthode de Locquin ⁽⁸⁾ en tenant compte des proportions indiquées par Sen ⁽⁹⁾. Je rappelle brièvement que cette méthode consiste à faire agir le nitrite d'éthyle sur l'éther isopropylacétylacétique sodé, à traiter le produit obtenu, dissous dans l'acide formique, par le sulfate de nitrosyle, et finalement à saponifier par la potasse en solution étendue.

L'acide ainsi obtenu n'est pas encore optiquement pur ; il est alors incomplètement (80 %) saturé par la soude ; la solution encore acide est extraite à l'éther en renouvelant celui-ci jusqu'à ce qu'il ne colore plus une solution de soude mise à son contact. Par addition d'acide sulfurique effectuée au voisinage de 0°, l'acide diméthylpyruvique est alors libéré ; il est extrait à l'éther et distillé suivant la technique habituelle. Au cours de toutes les manipulations il est indispensable de protéger le produit très hygroscopique contre toute trace d'humidité.

(8) R. LOCQUIN. *Thèse*, Paris 1904.

(9) H. K. SEN. *Biochem. Zs.*, **143**, 195; 1923.

1° ETUDE DES RAPPORTS ENTRE L'EAU ET L'ACIDE
DIMÉTHYLPYRUVIQUE

Avant de faire l'étude proprement dite des variations de constitution de l'acide diméthylpyruvique dans ses solutions aqueuses, j'ai voulu me rendre compte du comportement de l'acide pur vis-à-vis de l'eau. J'ai ainsi constaté tout d'abord que l'acide diméthylpyruvique donne avec l'eau un hydrate parfaitement défini correspondant à la formule :



La formation de cet hydrate est en accord avec l'hygroscopicité de la substance anhydre cristallisée.

Si l'on abandonne en effet de l'acide diméthylpyruvique cristallisé, à l'air, il ne tarde pas à se liquéfier tout en augmentant de poids jusqu'à une certaine limite, correspondant à la fixation de 1 molécule d'eau :

0,0584 gr. de produit hydraté correspondant à 4,37 cc. NaOH N/10.

Soit en $(\text{CH}_3)_2 \text{CH. CO. COOH}$	86,8 %
calculé pour $(\text{CH}_3)_2 \text{CH. CO. COOH. H}_2\text{O}$	86,6 %

J'ai observé ensuite que l'acide diméthylpyruvique présente, vis-à-vis de l'eau, des phénomènes de solubilité réciproque : d'un part, solubilité de l'acide dans l'eau et, d'autre part, solubilité de l'eau dans l'acide ; ces phénomènes sont naturellement sous la dépendance de la température ; à 20° par exemple, il semble que la solution aqueuse soit saturée en acide pour une concentration voisine de 0,7 M en cet acide.

Cette solubilité réciproque se manifeste par le fait que

lorsque, à la température de 20°, par exemple, l'on cherche à préparer une solution plus concentrée que 0,7 M, on obtient non pas une solution limpide, mais une émulsion qui au bout de quelque temps se rassemble pour former deux couches, la couche inférieure étant constituée par une solution de l'eau dans l'acide. Lorsque l'on élève la température, en plaçant le tout au thermostat à 37° par exemple, on observe au bout d'un temps assez long, de l'ordre de plusieurs heures, une disparition totale des deux couches : l'on n'a plus affaire qu'à une phase unique, parfaitement claire et homogène ; si alors on refroidit, en maintenant le récipient à 0°, l'on retrouve parfois le trouble initial, mais le plus souvent on n'observe plus de nouvelle séparation en deux couches : même après abandon pendant quatre jours à — 3°, j'ai très souvent retrouvé la solution aussi limpide et homogène qu'à 37 ou 40°. J'attribue ce fait à une sursaturation stabilisée de la solution.

2° ETUDE SPECTROGRAPHIQUE

A. — *Solutions aqueuses* (acide dissous dans l'eau)

a) *Influence de la concentration en acide.* — J'ai étudié le spectre d'absorption ultra-violet des solutions aqueuses d'acide diméthylpyruvique aux concentrations suivantes :

0,691 M	0,107 M	0,0174 M	0,0097 M
(pH=1,12)	(pH=1,60)	(pH=2,13)	(pH=2,31)

Les résultats obtenus sont représentés par les courbes de la figure 1.

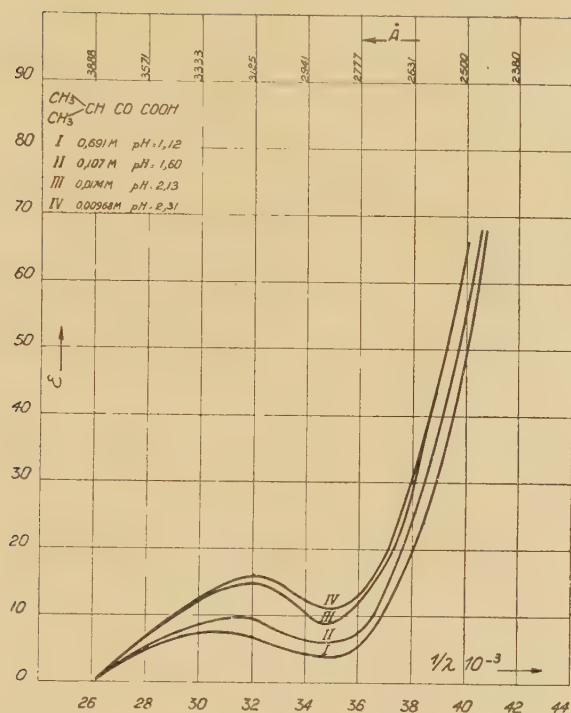


FIG. 1

L'aspect général de ces courbes montre l'existence de la bande caractéristique du groupe CO, bande dont le maximum est aux environs de $\lambda = 3120 \text{ Å}$ à $\lambda = 3300$, selon les cas (bande I) et l'amorce de la bande d'absorption (bande II) caractéristique du groupe COOH.

C'est seulement l'intensité et la position de la bande I, dont je considère les variations.

On voit, dès maintenant, que la loi de Beer ne s'applique pas ici.

En effet, au fur et à mesure que la dilution augmente, ou ce qui revient au même, que le pH de la solution augmente, on assiste à un accroissement de la valeur du coefficient d'absorption maximum de la première bande, en même temps

qu'un léger décalage de ce maximum vers la droite (ultra-violet court). On retrouve ici le phénomène déjà signalé à propos de l'acide pyruvique.

b) *Influence de la concentration en ions H^+ .* — J'ai étudié ensuite quel peut être l'aspect du spectre d'absorption ultra-violet lorsque varie non pas la concentration de l'acide lui-même, mais uniquement celle des ions H^+ du milieu. Pour cela j'ai préparé des solutions d'acide diméthylpyruvique à des mêmes concentrations, mais plus ou moins saturées par addition de soude, de manière à obtenir des pH différents pour une même concentration totale en acide. Les résultats obtenus sont représentés par les courbes des figures 2 et 3.

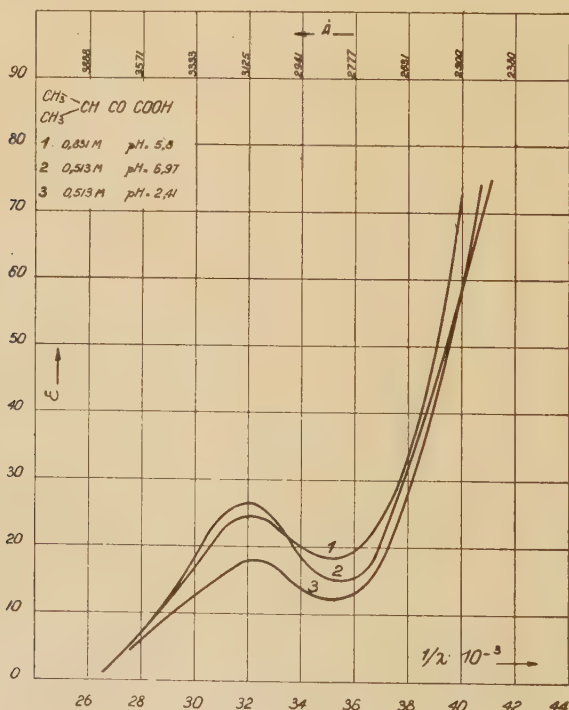


FIG. 2 .

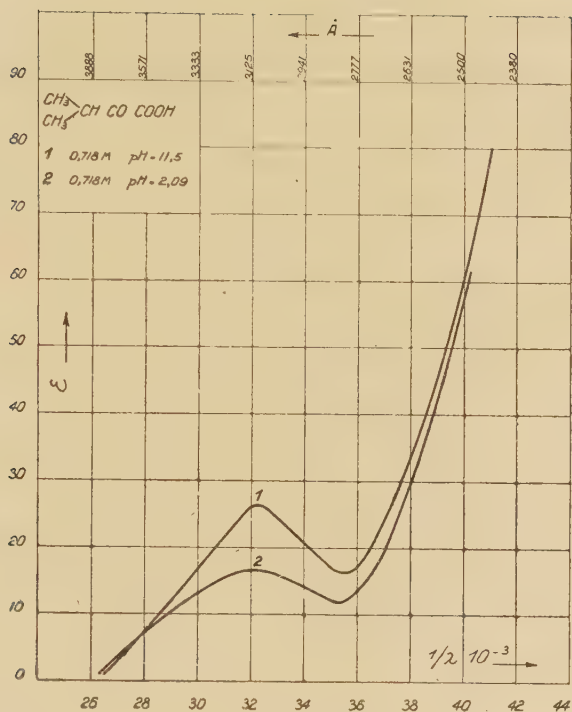


FIG. 3

On voit que d'une façon tout à fait analogue à ce que l'on savait déjà pour l'acide pyruvique, une diminution de la concentration en ions H^+ modifie le spectre de façon très nette ; on observe que, tout à fait comme dans le cas des solutions d'acide seul, l'augmentation du pH provoque un accroissement du maximum de la première bande d'absorption.

Cet accroissement ne continue d'ailleurs pas de façon constante, il cesse à partir d'un pH voisin de 5. On peut se demander alors si les modifications spectrales observées dans le cas des solutions d'acide pur, sans addition de soude, sont dues non pas aux variations de concentration en acide, mais plutôt essentiellement aux modifications du pH du milieu. Si l'on trace alors la courbe représentant les variations du

maximum de la première bande d'absorption en fonction du pH, on voit (fig. 4) que les valeurs du coefficient d'absorption en question ne dépendent uniquement que de la concentration en ions H^+ , quelle que soit la façon dont cette concentration en ions H^+ ait été obtenue ; soit par addition de soude à une solution d'acide concentré, soit par la simple dilution d'une solution d'acide pur.

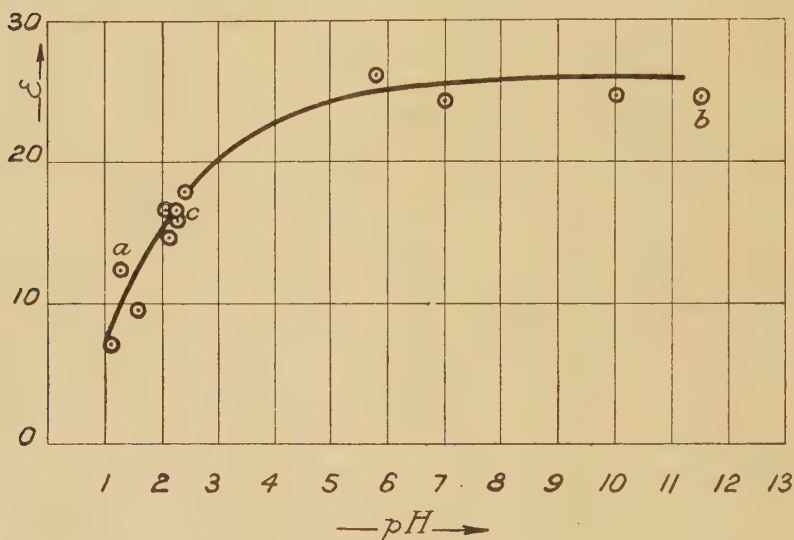


FIG. 4

Là encore, nous retrouvons un phénomène analogue à celui qui a été signalé précédemment pour l'acide pyruvique.

Il était alors intéressant d'établir la réversibilité du phénomène. Pour ce faire, j'ai mesuré le spectre d'une solution d'acide à concentration 0,418 M (a) pH : 1,31, puis j'ai ajouté de la soude de façon à obtenir un pH de 11 environ et j'en ai mesuré le spectre (b) ; par acidification ultérieure au moyen d'acide sulfurique, correspondant à une demi-saturation de la soude introduite, j'ai obtenu une solution de pH 2,23 dont

j'ai également mesuré le spectre (c). La figure 5 représente les spectres obtenus et les points marqués a, b, c, sur la figure 4 indiquent leur position par rapport à la courbe générale. Cette expérience démontre, d'une façon très nette, la parfaite réversibilité des modifications des spectres d'absorption en fonction du pH.

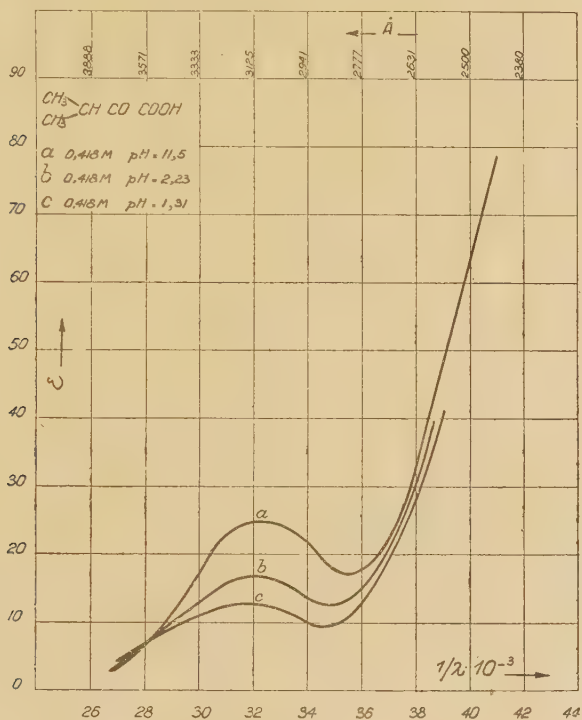


FIG. 5

B. — Solution de l'eau dans l'acide

Etant donné les phénomènes de solubilité réciproque dont j'ai parlé plus haut, j'ai recherché quel était le spectre de l'acide dans des conditions telles que ce soit l'eau qui soit dissoute dans l'acide et non plus comme dans le cas précédent, l'acide dans l'eau.

La figure 6 représente l'une des courbes obtenues. Cette courbe correspond à une concentration 4,97 M en acide.

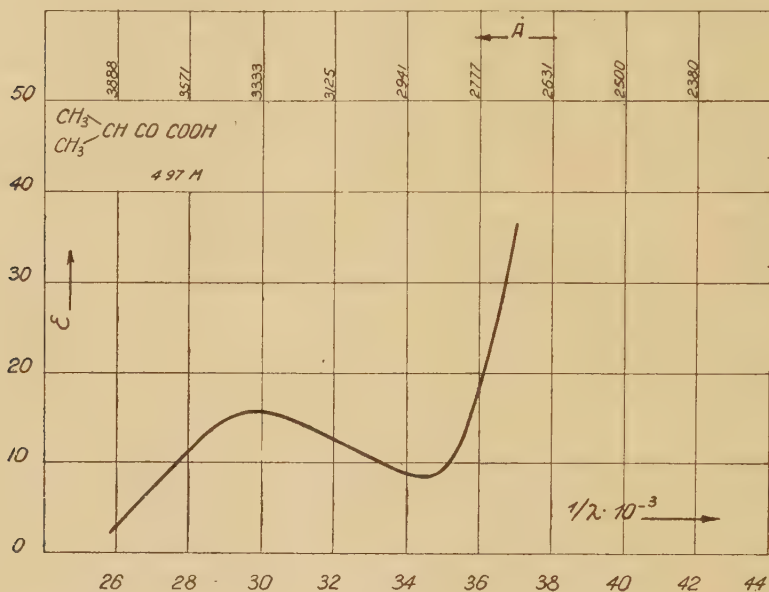


FIG. 6

On voit tout de suite que le spectre de l'acide, lorsqu'il contient de l'eau dissoute, diffère de ceux de l'acide dissous dans l'eau par un décalage important de la bande I vers la gauche; ce décalage est tel que le sommet de la bande est reporté de $\lambda = 3120$ environ à $\lambda = 3350$.

C. — Etude de l'acide diméthylpyruvique dissous dans d'autres solvants que l'eau

J'ai mesuré les spectres de l'acide diméthylpyruvique dissous dans l'alcool, dans l'éther et dans le dioxane, ces solvants ayant été purifiés comme il a été dit précédemment.

Je me suis contenté, dans ces différents cas, de l'étude d'une seule concentration. Les spectres obtenus sont ceux de la figure 7. Tous trois présentent un aspect commun qui les

apparente au spectre de la figure 6, et qui les différencie des spectres obtenus avec les solutions aqueuses. C'est aspect commun résulte d'un décalage général vers la gauche.

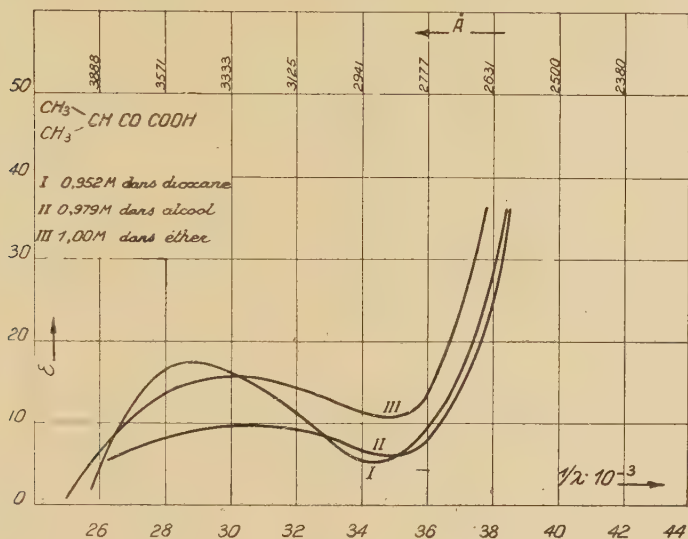


FIG. 7

On remarque, en outre, que le bande I du spectre est beaucoup mieux marquée pour la solution dans le dioxane que pour les solutions dans l'alcool ou dans l'éther. Ce fait est l'indice d'une association relativement moins étroite entre le dioxane et l'acide.

3° ETUDE DES FORMES ÉNOLIQUES

Contrairement à l'acide pyruvique lui-même, l'acide diméthylpyruvique donne, dans certaines conditions qui font précisément l'objet de cette étude une réaction colorée (bleue) très nette avec le chlorure ferrique ; cette réaction colorée, qui disparaît instantanément par addition de brôme, est l'indice caractéristique de la présence d'une forme énolique.

Je me suis attaché à déterminer les proportions de la forme énolique existant dans les solutions aqueuses d'acide diméthylpyruvique en faisant varier successivement la concentration en acide, la concentration en ions H^+ et la température. Les mesures sont assez délicates à effectuer, étant donné, d'une part, la très faible proportion de la forme énolique présente qui ne dépasse pas quelques unités pour mille et, d'autre part, la rapidité avec laquelle cette proportion se modifie quand les conditions du milieu changent, comme au cours du dosage par exemple. Chaque point, à partir duquel les courbes ont été construites, représente la moyenne d'au moins trois mesures qui se sont d'ailleurs toujours montrées concordantes.

A. — *Influence de la température et de la concentration en acide*

Les résultats obtenus en ce qui concerne les variations de concentration en acide et l'influence de la température sont représentées par l'ensemble des courbes de la figure 8.

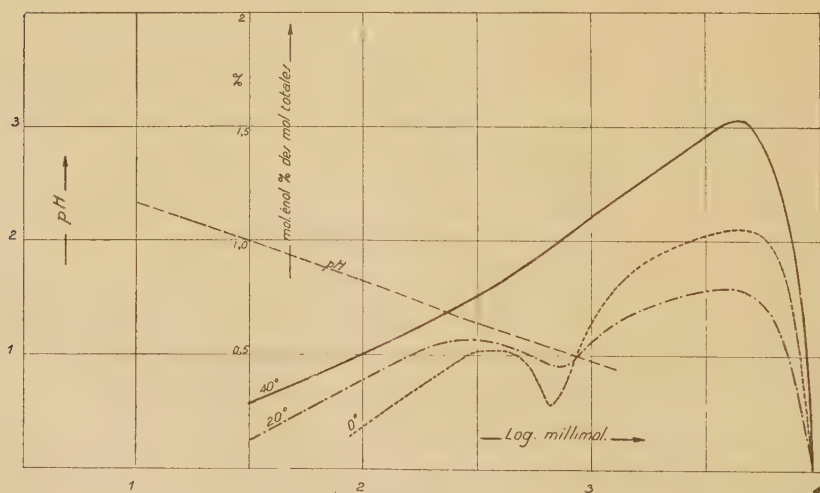


FIG. 8

Au premier abord l'aspect de ces courbes est assez singulier, mais il s'explique facilement lorsque l'on considère les phénomènes de solubilité réciproque signalés au début.

Pour les températures de 0° et de 20°, l'on doit considérer deux parties des courbes : la partie correspondant au cas où l'acide est dissous dans l'eau et la partie correspondant au cas où l'eau est dissoute dans l'acide.

Dans la première partie, la forme énolique croît avec la température alors que c'est l'inverse dans la seconde ; mais au fur et à mesure que la température s'élève la seconde partie de la courbe tend à disparaître et à la température de 40° l'on n'a plus à faire qu'à l'acide dissous dans l'eau : la courbe correspondant à cette température ne présente plus de point de rebroussement. Il est d'ailleurs à noter que pour la concentration en acide qui correspond précisément à l'hydrate, 9,2 Mol (log. millimol = 3,964), cet acide existe uniquement sous forme cétonique, et ce, aussi bien à 40° qu'à 0°.

B. — Influence de la concentration en ions H^+

Lorsque l'on augmente le pH par addition de soude l'on constate, quelle que soit la concentration en acide, une diminution très rapide de la teneur en forme énolique qui ne tarde pas à s'annuler. Ceci ressort des chiffres du tableau ci-dessous, qui concerne des expériences faites à la température de 20° avec une solution 0,687 M en acide total :

Degré de saturation par NaOH	pH	Mol. émol en % des mol. totales
1/1	5,2	0,00
4/5	2,7	0,22
1/2	2,1	0,42
1/3	1,8	0,50

II. — ETUDE DE L'ACIDE METHYLETHYLPYRUVIQUE

Préparation. — L'acide méthyléthylpyruvique que j'ai utilisé ici a été obtenu par la méthode de Locquin. On opère par conséquent comme dans le cas de l'acide diméthylpyruvique, mais on part de l'éther butyl secondaire acétylacétique au lieu de partir de l'éther isopropylacétylacétique.

1° ETUDES DES RAPPORTS ENTRE L'EAU ET L'ACIDE MÉTHYLÉTHYLPYRUVIQUE

J'ai constaté que, comme l'acide diméthylpyruvique, l'acide méthyléthylpyruvique donne avec l'eau un hydrate défini correspondant à la formule :



Si l'on abandonne en effet de l'acide diméthylpyruvique cristallisé à l'air il se liquéfie lentement tout en augmentant de poids jusqu'à une certaine limite correspondant à la fixation de 1 molécule d'eau :

0,0754 gr. de produit hydraté correspond à :

5,07 cc. NaOH N/10

soit en $\begin{array}{c} \text{CH}^3 \\ \text{C}^2\text{H}^5 \end{array} \rangle \text{CH} \cdot \text{CO} \cdot \text{COOH} \dots\dots\dots 87,8 \%$

calculé pour



Je signale en passant que l'hygroscopicité du dérivé méthyléthyl est sensiblement moins forte que celle du dérivé diméthyl. Si l'on observe en effet les vitesses initiales d'hydratation de ces deux corps à la température de 20° et dans les mêmes conditions d'humidité de l'air extérieur, on voit que la vitesse d'hydratation du dérivé méthyléthyl est 55 % de la vitesse d'hydratation du dérivé diméthyl.

En outre j'ai remarqué que la tension de vapeur de l'hydrate du méthyléthyl est beaucoup plus faible que celle de l'hydrate du diméthyl; ceci ressort de l'observation des courbes représentant les augmentations et les diminutions de poids qui se manifestent lorsque l'on abandonne à l'air les dérivés en question.

J'ai, d'autre part, observé qu'il existe ici encore des phénomènes de solubilité réciproque; ces phénomènes sont tout à fait analogues à ceux que nous avons déjà rencontrés dans le cas du dérivé diméthyl; on retrouve notamment le même phénomène de sursaturation des solutions refroidies.

2° ETUDE SPECTROGRAPHIQUE

A. — Solutions aqueuses

a) *Influence de la concentration en acide.* — J'ai recherché si le spectre d'absorption ultra-violet des solutions aqueuses d'acide méthyléthylpyruvique variait ici encore avec la concentration. J'ai étudié des solutions aux concentrations suivantes :

1.185 M	1,014 M	0,122 M	0,101 M	0,0104 M	0,0052 M
pH=0,88	pH=0,92	pH=1,36	pH=1,48	pH=2,23	pH=2,46
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	

Les résultats obtenus sont représentés par les courbes de la figure 9 et les points de la figure 11.

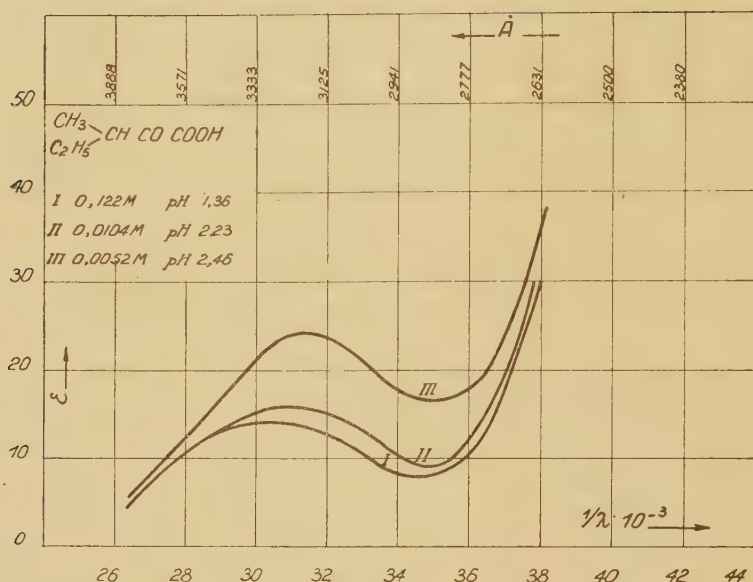


FIG. 9

Là encore nous retrouvons l'aspect général des courbes correspondant aux acides α -cétoniques avec l'existence de la bande caractéristique du groupement CO (bande I) et l'amorce de la bande d'absorption (bande II) caractéristique du groupement COOH.

Nous retrouvons également ce fait que la loi de Beer ne s'applique pas ici.

Comme pour l'acide pyruvique, comme pour l'acide diméthylpyruvique, on retrouve les mêmes modifications du spectre lorsque la dilution augmente.

b) *Influence de la concentration en ions H^+ .* — Les courbes ci-dessous (fig. 10 et 11) montrent comment le spectre de l'acide méthyléthylpyruvique varie lorsque croît le pH de la solution ; ces courbes montrent qu'il se produit une modification du spectre analogue à celle qui a été obtenue précédemment pour le dérivé diméthyl.

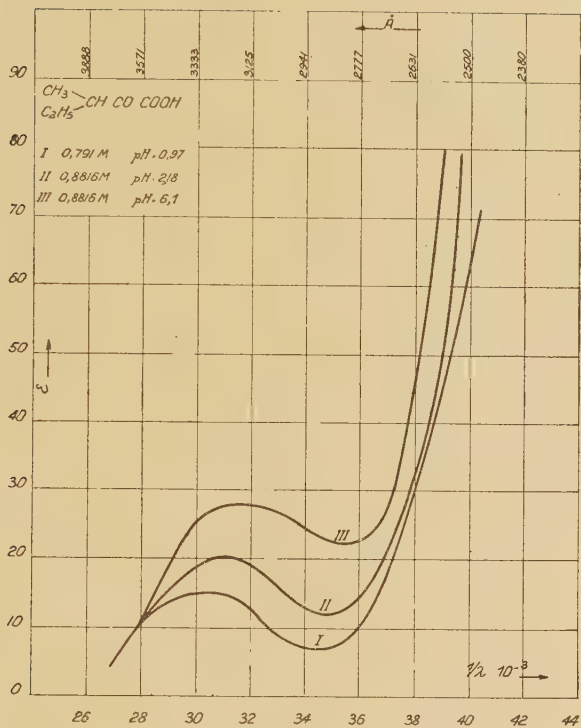


FIG. 10

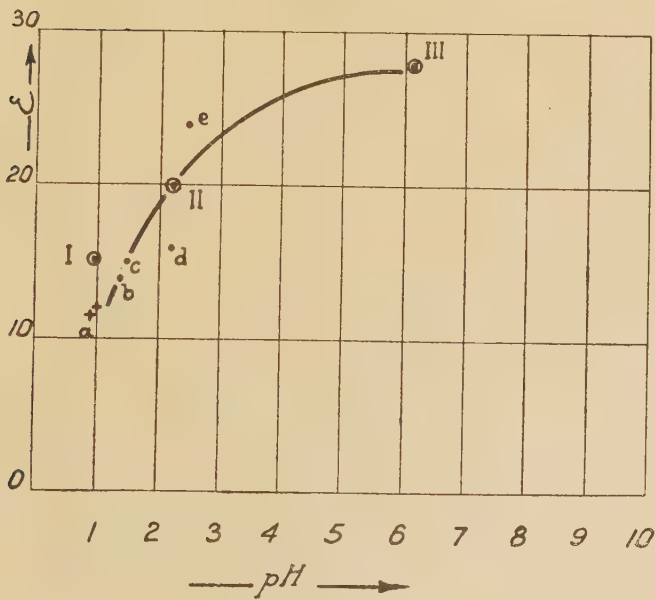


FIG. 11

B. — *Solution de l'eau dans l'acide* —

J'ai mesuré également le spectre de l'acide méthyléthylpyruvique dans des conditions telles que ce soit l'eau qui soit dissoute dans cet acide, la figure 12 représente la courbe obtenue pour une concentration 7,67 M en acide ; c'est là une concentration très voisine de celle qui correspond à l'hydrate pur.

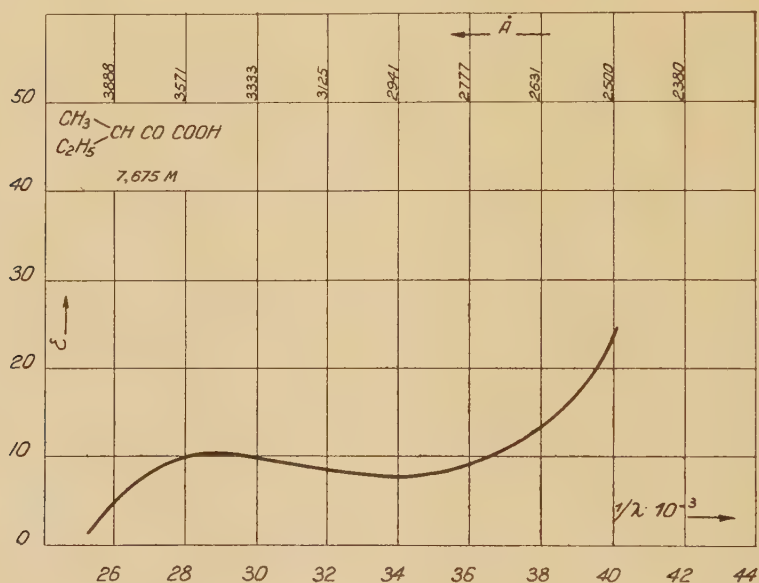


FIG. 12

Cette courbe montre que la bande I est très sensiblement décalée vers la gauche et que l'intensité générale de l'absorption est fortement affaiblie.

C. — *Etude de l'acide méthyléthylpyruvique dissous dans d'autres solvants que l'eau*

Comme pour l'acide diméthylpyruvique, j'ai mesuré les spectres de l'acide méthyléthylpyruvique dissous dans l'alcool, dans l'éther et le dioxane en me contentant de l'étude

d'une seule concentration pour chacun de ces solvants. Les résultats sont représentés par les courbes de la figure 13.

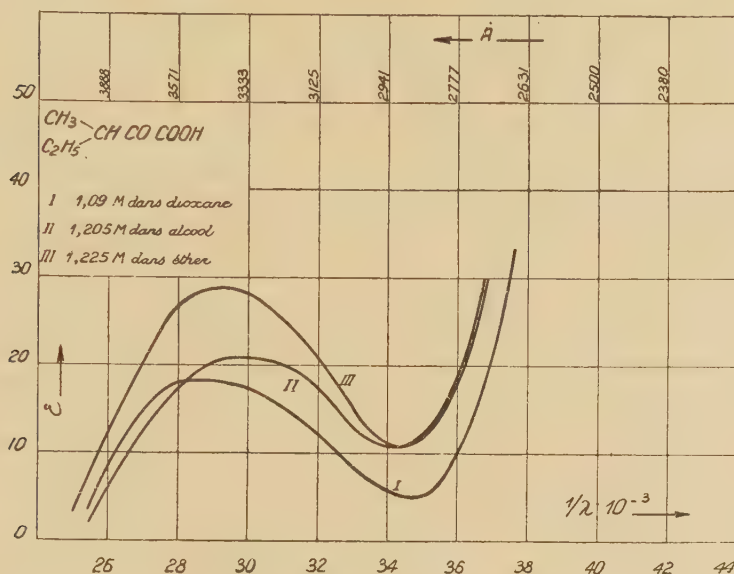


FIG. 13

3° ETUDE DES FORMES ÉNOLIQUES

L'acide méthyléthylpyruvique comme l'acide diméthylpyruvique donne, avec le chlorure ferrique et dans les conditions que j'étudie précisément ici, une réaction colorée (bleue) très nette avec le chlorure ferrique. Cette réaction disparaissant instantanément par addition de brome permet, comme dans le cas de l'acide diméthylpyruvique, de déterminer les proportions de forme énolique existant dans les solutions aqueuses d'acide méthyléthylpyruvique. J'ai étudié les variations des proportions de cette forme énolique en faisant varier successivement la concentration en acide, la concentration en ions H⁺ et la température.

La technique suivie et les difficultés rencontrées sont les mêmes que dans le cas de l'acide diméthylpyruvique.

A. — *Influence de la température et de la concentration en acide*

Les résultats obtenus en ce qui concerne les variations de concentration en acide et l'influence de la température sont représentés par l'ensemble des courbes de la figure 14.

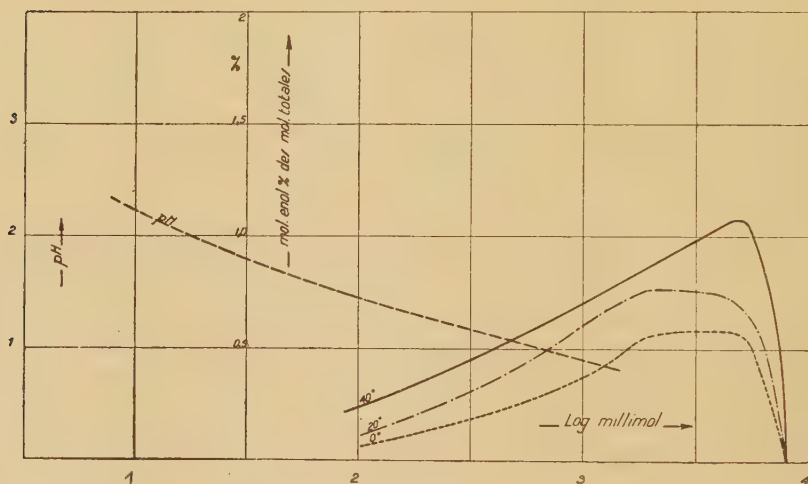


FIG. 14

L'aspect général de ces courbes est très simple : d'une part, la température manifeste son influence en provoquant une augmentation de la forme énolique quand la température croît, et ce, à toutes les concentrations ; d'autre part, en ce qui concerne l'influence de la concentration, on voit qu'il existe une concentration pour laquelle la proportion en forme énolique est maxima. Il n'y a pas de chevauchement d'une courbe sur l'autre, comme cela se produit pour le dérivé diméthyl.

B. — Influence du pH

L'influence du pH sur la teneur en forme énolique ressort du tableau suivant :

Concentration en acide totale	Degré de saturation par NaOH	pH	Mol. éol % des Molécules totales
0,8816 M	1/1	6,1	0,00
0,8816	2/3	2,2	0,09
0,791 (sursaturé)	0	0,97	0,36

III. — ETUDE DE L'ACIDE TRIMETHYLPYRUVIQUE

Pour permettre une discussion d'une partie des résultats obtenus avec les acides précédents il était intéressant d'étudier le spectre ultra-violet de l'acide triméthylpyruvique.

Préparation. — J'ai préparé l'acide triméthylpyruvique par la méthode de Glucksmann ⁽¹⁰⁾. Je rappelle brièvement que cette méthode consiste en l'oxydation de la pinacoline par le permanganate de potasse en solution alcaline, ce qui donne une solution alcaline de triméthylpyruvate de soude, solution dont on libère l'acide triméthylpyruvique par la méthode habituelle.

Je n'ai pas rencontré ici les inconvénients de jaunissement que j'ai signalé plus haut, à propos des acides diméthylpyruvique et méthyléthylpyruvique.

(10) GLÜCKSMANN. *Monatshefte*, **10**, 771.

ETUDE SPECTROGRAPHIQUE

Je n'ai fait l'étude spectrographique de l'acide triméthylpyruvique qu'en solution aqueuse. Je rappelle d'ailleurs que, d'après A. Richard ⁽¹¹⁾, l'acide triméthylpyruvique, comme ses homologues diméthyl et méthyléthyl, donne un hydrate défini. Mais, contrairement à ce que nous avons vu dans les cas précédents, cet hydrate qui correspond à $1/2 \text{ H}_2\text{O}$ par molécule d'acide, est cristallisé et présente un point de fusion bien net à 90° .

J'ai étudié l'acide triméthylpyruvique en faisant varier, d'une part, la concentration en acide et, d'autre part, la concentration en ions H^+ .

a) *Influence de la concentration en acide*

Les solutions aqueuses d'acide triméthylpyruvique, dont j'ai mesuré le spectre, étaient aux concentrations suivantes :

0,488 M	pH = 0,94
0,279 M	pH = 1,11
0,010 M	pH = 2,28

Quelle que soit la concentration mesurée, le spectre d'absorption ultra-violet a toujours été exactement le même, c'est-à-dire qu'ici la loi de Beer s'applique parfaitement.

La figure 15 représente le spectre en question (courbe 2).

b) *Influence de la concentration en ions H^+*

J'ai, comme dans les cas précédents, étudié le spectre d'absorption des solutions aux concentrations suivantes, plus ou moins neutralisées par addition de soude :

(11) A. RICHARD. *Thèse*, Paris 1910.

0,488 M pH = 5,74

0,279 M pH = 10,1

Dans aucun cas je n'ai trouvé de différences sensibles dans les spectres d'absorption de ces solutions.

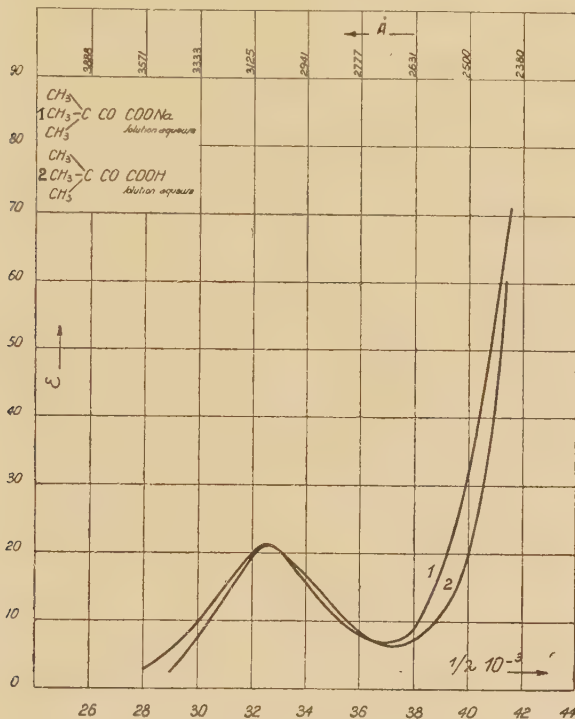


FIG. 15

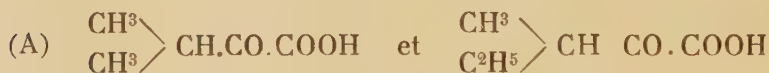
La figure 15 (courbe 1) représente le spectre d'absorption ultra-violet des solutions de triméthylpyruvate de soude. Cette courbe 1 diffère très légèrement de la courbe 2 comme cela a lieu presque toujours pour les courbes d'absorption de sels neutres d'acides organiques comparées aux courbes d'absorption des acides organiques eux-mêmes.

Discussion des résultats

De l'ensemble des résultats expérimentaux obtenus, il ressort tout d'abord que les acides α -cétoniques étudiés ici possèdent une structure éminemment variable, se modifiant sous une série d'influences, parmi lesquelles la température, la concentration en radical acide, la concentration en ions H^+ , jouent un rôle important.

Il est évidemment tentant de se demander quelle est la structure ou quelles sont les structures qu'il convient d'attribuer aux acides étudiés ici, dans les différentes conditions.

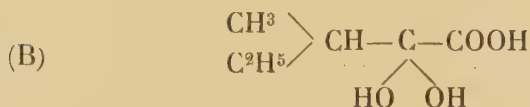
Nous pouvons dire tout d'abord que les acides méthyléthylpyruvique et diméthylpyruvique à l'état cristallisé, anhydre, existent sous la forme cétonique classique :



Ceci ressort du fait que ces acides, dissous rapidement dans de l'eau froide, ne donnent pas immédiatement de réaction avec $FeCl_3$.

D'autre part, les hydrates résultant de la fixation d'une molécule d'eau sur ces acides ne donnent pas encore de forme énolique ; mais il est probable, et surtout dans le cas de l'acide méthyléthylpyruvique, que la formation de ces

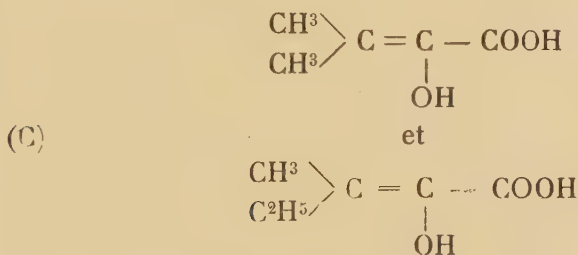
hydrates affecte la forme cétonique pour la transformer en partie en la forme suivante :



En effet, le spectre de l'hydrate de l'acide méthyléthylpyruvique (fig. 12) indique une disparition très notable du groupe CO libre. Le spectre de l'hydrate de l'acide diméthyl, additionné d'eau (fig. 6), montre l'existence du groupe CO libre, mais affaibli néanmoins si on le compare au spectre obtenu dans le dioxane.

L'acide diméthylpyruvique se différencierait ainsi par une proportion beaucoup moindre de cette forme.

Lorsque l'on considère maintenant les solutions de chacun de ces acides dans l'eau, on voit d'une façon très nette qu'ils existent en partie sous forme énolique.



Les proportions de forme énolique ne sont jamais bien fortes ; elles sont au plus de 1 à 2 %, mais par suite de déplacements possibles constants d'équilibre, le simple fait qu'elles existent leur permet de jouer un rôle important.

Il est intéressant de comparer les variations en formes énoliques avec celles que subissent les spectres d'absorption dans

les mêmes conditions ; de cette comparaison il résulte immédiatement que ces variations se font en sens inverse et paraissent absolument indépendantes les unes des autres ; il est facile de voir en effet que, pour les deux acides, lorsque le pH des solutions augmente la proportion de la forme énoïque diminue pour bientôt s'annuler alors que l'intensité de l'absorption de la bande I augmente jusqu'à une certaine limite, à partir de laquelle elle reste pratiquement constante.

On est alors amené à se demander quelle est la signification des variations des spectres des acides en question.

Tout d'abord, le fait que les spectres présentent un décalage latéral quand on passe des solutions de l'eau dans l'acide aux solutions de l'acide dans l'eau, indique que les rapports entre l'eau et l'acide ne sont pas les mêmes dans les deux cas.

Lorsque l'acide est dissous dans l'eau, ses molécules doivent être entourées d'une série de dipôles H^2O plus ou moins retenus électriquement à leur surface, sans qu'il puisse être question d'hydrate défini. On peut alors représenter les molécules des acides en question par :



et il est possible que les hydrates, tel que celui qui correspond à la formule (B), n'existent plus : on constate en effet nettement l'existence de la bande I.

Mais en outre, dans les solutions des acides dans l'eau nous avons vu que lorsque le pH croît, il apparaît une modification d'intensité, accompagnée d'ailleurs d'un léger décalage vers la droite ; et c'est la signification de cet accroissement d'intensité avec l'alcalinisation du milieu que nous voulons discuter maintenant.

En premier lieu, il est manifeste que cette modification est due à la présence d'un hydrogène mobile immédiatement voi-

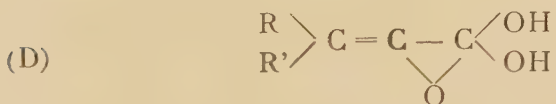
sin du groupe CO ; en effet l'acide triméthylpyruvique, qui ne possède pas d'hydrogène mobile, ne présente nullement ces variations spectrales ; cette observation implique, par conséquent, la migration de cet hydrogène en un point quelconque de la molécule, c'est-à-dire en somme l'apparition d'une double liaison.

Cette manière de voir se trouve justifiée par les deux observations suivantes :

1° On sait que l'apparition d'une double liaison dans une molécule qui n'en possède pas provoque une augmentation sensible de l'intensité de l'absorption ultra-violette de la substance, et c'est précisément ce à quoi nous assistons ici.

2° Si l'on oxyde de l'acide pyruvique précisément dans les conditions où il donne des modifications spectrales analogues à celles étudiées ici, l'on obtient de l'acide oxalique, ce qui montre l'existence d'une double liaison ⁽¹²⁾.

Or, parmi les nombreuses formules que l'on peut attribuer aux acides α-cétoniques dont il est question ici, une seule permet d'imaginer une telle structure ; c'est, en négligeant l'ionisation, la formule suivante :



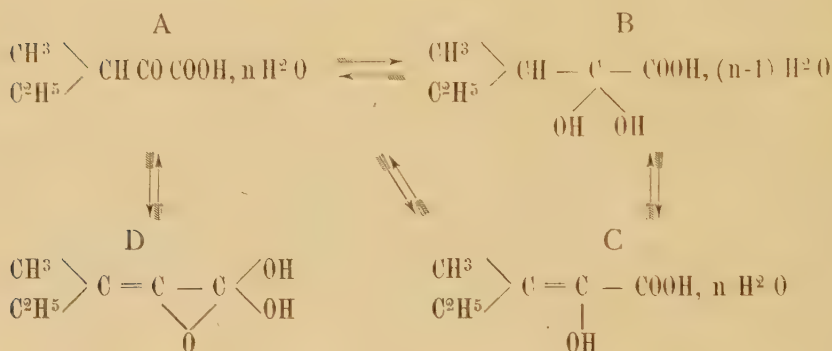
Cette formule rend compte et des modifications spectrales et de l'absence de réaction par FeCl³. L'existence du groupe $\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} C - C \text{---} \\ \diagdown \quad \diagup \\ O \end{array}$ semble n'avoir aucune influence sur l'absorption

(12) I. St. NEUBERG, *l. c.*

ultra-violette ; l'oxyde d'éthylène $\begin{array}{c} \text{CH}^2 - \text{CH}^2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \end{array}$ a été, en

effet, étudié au laboratoire à ce point de vue, et l'on a pu constater que son absorption est tout à fait nulle avant 2100 Å.

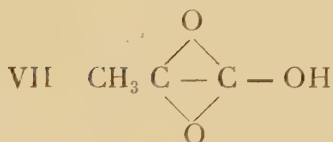
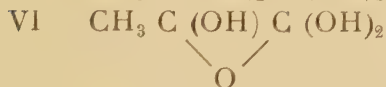
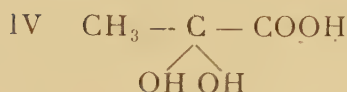
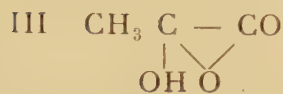
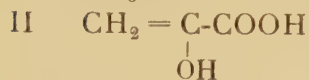
Si nous résumons les données précédentes, en ne considérant, pour simplifier, que l'acide méthyléthylpyruvique, nous obtenons les équilibres suivants :



l'acide diméthylpyruvique donnant lieu à des formes analogues.

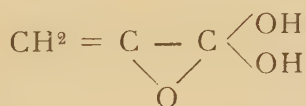
Il est intéressant de voir ce que ces résultats apprennent sur l'acide pyruvique lui-même. Neuberg (13) a déjà attiré l'attention sur l'importance biologique de la mutation de ce corps. Il a imaginé un certain nombre de formules de constitution pouvant éventuellement s'appliquer à l'acide pyruvique. Ces formules, purement hypothétiques d'ailleurs, sont les suivantes :

(13) C. NEUBERG. *Biochem. Zs.* **180**, 471; 1927.



Les résultats obtenus au cours du présent travail permettent de préciser un peu les choses.

En remarquant que les modifications spectrales étudiées sont tout à fait les mêmes pour l'acide pyruvique et pour les acides diméthyl et méthyléthylpyruvique, et sans tenir compte des hydrates, l'on peut admettre, semble-t-il, l'existence de la forme.



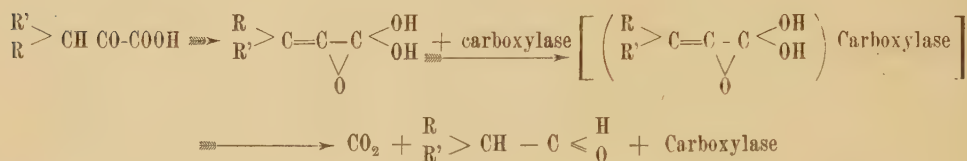
C'est une forme voisine de celle qui correspond à la formule (VI) de Neuberg.

Négligeant la formation d'hydrate, on a alors, pour l'acide pyruvique lui-même, en solution aqueuse diluée et faiblement acide, l'équilibre :



sans avoir de forme énolique proprement dite.

C'est sur cette forme à double liaison que semble s'exercer spécifiquement l'action de la carboxylase ; l'on a ainsi affaire à une sorte de spécificité du second degré, qui conduit à envisager la décarboxylation biologique des acides α -cétoniques de la façon suivante :



SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES P. R LA FACULTÉ

Constitution des Catéchines

Lu et accepté :

LES MEMBRES DU JURY,

L. MEUNIER.

C. FROMAGEOT.

Vu et approuvé :

LE DOYEN DE LA FACULTÉ
DES SCIENCES DE LYON,
MEMBRE DE L'INSTITUT,
V. GRIGNARD.

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 15 Juillet 1932.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. LIRONDELLE.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	7
Techniques générales	13
Résultats expérimentaux	16
Discussion des résultats	38
